

Berbagai Paradigma Pendefinisian *Endothelial Progenitor Cells*

Frisca¹, Caroline T. Sardjono^{1,2}, Ferry Sandra¹

¹Stem Cell and Cancer Institute, Kalbe Pharmaceutical Company,

²Microbiology Department, Medical Faculty, Maranatha Christian University

Abstract

Recently, it has been elucidated that a population of stem cells present in the blood circulation known as *Endothelial Progenitor Cells* (EPCs) plays an important role in the vascular regeneration. This cell population attracts medical attention thus promoting its potential use in diagnostic and therapy of many vascular diseases. There were several reports describing EPCs as cells with different characteristics which lead into the complexity in defining EPCs. Many efforts have been made in the search of distinct definition of EPCs. Certainly, a more precise definition of EPCs would facilitate the usage of stem cell therapy for various vascular diseases through EPCs. This paper reviews most common EPCs definitions and their implications.

Keywords: endothelial progenitor cells, EPCs, stem cells, definition, vascular diseases therapy

Pendahuluan

Berawal pada tahun 1997, Asahara *et al.* mengidentifikasi sebagian kecil sel dari populasi sel berinti tunggal pada peredaran darah manusia dewasa memiliki potensi untuk berdiferensiasi menjadi sel endotel dalam kultur (*in vitro*)¹. Lebih lanjut, diketahui bahwa sel tersebut memiliki molekul penanda CD34 yang merupakan salah satu molekul penanda sel induk.¹ Populasi sel ini kemudian disebut *Endothelial progenitor cells* (EPCs) sesuai dengan keistimewaannya berdiferensiasi membentuk sel endotel dan berperan dalam pembentukan pembuluh darah baru.¹

Semenjak dilaporkannya hasil studi tersebut, banyak studi lanjutan yang telah dilakukan dengan tujuan mengisolasi, memperbanyak, dan mengetahui karakteristik EPCs dalam kultur. Sejak itu pulalah muncul berbagai kontroversi seputar pertanyaan mendasar mengenai definisi serta fenotipe EPCs yang ternyata cukup

bervariasi.² Beberapa istilah untuk mendefinisikan sub populasi EPCs yang muncul di antaranya *early EPCs*³⁻⁵, *Endothelial Outgrowth Cells* (EOCs)^{2,6-8}, dan *Circulating endothelial progenitor cells* (CEPs).⁹ Dalam tulisan ini akan dibahas satu persatu mengenai sub populasi sel endotel tersebut beserta potensi implikasinya.

Definisi EPC Berdasarkan

Pengisolasian dan Kultur (*In Vitro*)

Pengisolasian EPCs dapat dilakukan melalui beberapa cara yang memiliki perbedaan baik pada sumber sel yang digunakan maupun metodenya. Sel yang digunakan umumnya diisolasi dari sumsum tulang⁷, darah tepi^{1,8}, dan darah tali pusat.¹⁰ Sel yang diperoleh dari sumber-sumber tersebut, dipisahkan berdasarkan morfologinya yaitu sel berinti tunggal (*mononucleated cells* atau MNCs). MNCs yang diperoleh dapat langsung dikultur pada kondisi

yang sesuai untuk diferensiasi EPCs, namun pada beberapa penelitian dan terapi dengan menggunakan EPCs, MNCs yang diperoleh dipisahkan berdasarkan penanda tertentu sebelum dikultur. Pemisahan dilakukan dengan menggunakan partikel besi yang akan menempel pada kolom magnet (separasi imunomagnetik). Molekul penanda yang sering digunakan adalah molekul CD34 dan CD133 (molekul penanda sel induk). Untuk memisahkan populasi yang mengekspresikan molekul penanda CD34 atau CD133 dari MNCs, dilakukan dengan pemberian antibodi terhadap CD34 atau CD133 yang telah terkonjugasi dengan partikel magnet untuk selanjutnya dipisahkan secara spesifik.^{1,11} Sel yang telah diseleksi tersebut didiferensiasi menjadi EPCs dalam kultur. Perbedaan dalam populasi sel awal yang dipilih untuk dikultur ternyata menimbulkan perbedaan pada karakteristik populasi EPCs yang dihasilkan.¹² Dari hasil kultur, didapatkan 2 subpopulasi EPCs.^{4,8} Masing-masing subpopulasi memiliki pola pertumbuhan dan karakteristik yang berbeda. Sub populasi pertama disebut *early EPCs*. Pemberian nama populasi ini berdasarkan waktu kemunculannya dalam kultur. *Early EPCs* dihasilkan dari kultur MNCs yang mendukung pertumbuhan EPCs dalam waktu relatif singkat (4-7 hari dalam kultur).¹³ Populasi sel tersebut kemudian dianalisis berdasarkan karakteristik sel endotel.¹⁴ Karakteristik *early EPCs* antara lain memiliki morfologi berbentuk *spindle* (Tabel 1) dan memiliki waktu pertumbuhan yang optimal namun tidak menunjukkan jumlah proliferasi yang signifikan pada 2-3 minggu pertama dalam kultur.¹⁵ Setelah periode waktu tersebut, jumlah populasi *early EPCs* terus menurun. Populasi ini juga

diketahui dapat menghasilkan mediator yang berperan dalam proses pembentukan pembuluh darah, seperti *vascular endothelial growth factor* (VEGF) dan Interleukin-8 (IL-8).^{16,17} Kedua mediator ini merupakan molekul proangiogenik yang dapat meningkatkan proliferasi, pembentukan struktur vaskular, dan migrasi EPCs.^{15,17}

Ditinjau dari fenotipenya, ekspresi molekul penanda sel endotel pada *early EPCs* tidak homogen. *Early EPCs* yang dikultur selama 4 hari mengekspresikan secara kuat molekul penanda sel turunan hematopoietik, antara lain CD14, CD11b, CD11c (terutama molekul penanda sel monosit atau makrofag).¹⁸ Sebagian kecil dari populasi ini mengekspresikan dengan lemah molekul penanda sel progenitor endotel (EPCs) dan sel endotel, yaitu CD34 dan *Vascular endothelial-cadherin* (VE-cadherin).¹⁵ Oleh karena ditemukannya molekul-molekul penanda yang juga didapati pada sel turunan hematopoietik maka beberapa peneliti mengkategorikan bahwa *early EPCs* juga merupakan turunan dari sel hematopoietik.^{4,6,8,12}

Dalam beberapa penelitian dilaporkan bahwa selain populasi *early EPCs*, didapatkan pula populasi EPCs lainnya, yaitu populasi sel *late EPCs* atau disebut juga *Endothelial Outgrowth Cells* (EOCs). Populasi sel ini ditemukan pada waktu relatif lebih lama dalam kultur. Pemberian nama EOCs berdasarkan waktu kemunculan dalam kultur (10-20 hari dalam kultur) dan kapasitas proliferasinya yang lebih besar daripada *early EPCs*.¹³ EOCs juga didapatkan dari populasi sel induk di dalam sumsum tulang, namun diketahui dapat pula diturunkan dari kultur jangka panjang pada MNCs yang berasal dari peredaran darah tepi.⁷ Karakteristik EOCs antara

lain memiliki morfologi berbentuk *cobblestone* (Tabel 1). Waktu pertumbuhan yang paling optimal adalah pada minggu ke 4 sampai ke 8 dan dapat dipertahankan sampai minggu ke 12 dalam kondisi kultur yang mendukung pertumbuhan EPC.¹³ EOCs yang diperoleh sebagai hasil ekspansi MNCs dari darah tepi dapat diekspansi sebanyak 20-30 kali lipat dalam kultur selama 60 hari dengan *serial passage* sedangkan *early* EPCs dilaporkan tidak memiliki jumlah proliferasi yang cukup signifikan dibandingkan EOCs.⁵ Populasi EOCs mensekresikan mediator pertumbuhan yang lebih sedikit jumlahnya dibandingkan *early* EPC.¹⁷ Walaupun demikian, uji fungsional EOCs yang dilakukan pada beberapa studi menunjukkan bahwa populasi ini memiliki kemampuan proliferasi, migrasi, dan pembentukan struktur vaskular pada matriks tiga dimensi yang lebih besar dibandingkan dengan *early* EPCs.^{4,6,8}

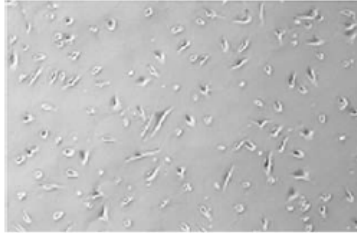
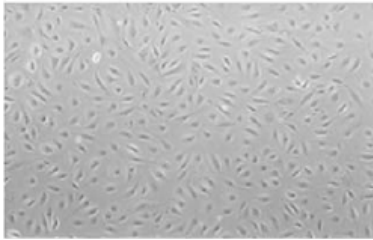
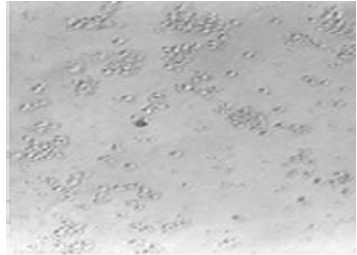
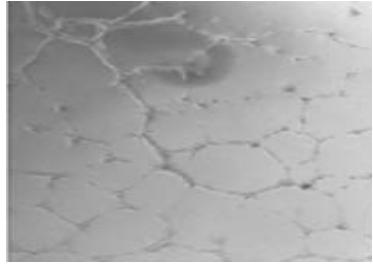
Perbedaan antara *early* EPCs dan EOCs juga ditemukan pada ekspresi molekul penandanya (Tabel 1). Walaupun kedua tipe EPC dapat mengekspresikan beberapa molekul penanda sel endotel, seperti *Kinase Domain Receptor* (KDR), *VE-Cadherin*, *von Willebrand Factor* (vWF), dan *endothelial nitric oxide* (eNOS), namun EOCs mengekspresikan molekul-molekul penanda tersebut secara lebih kuat dibandingkan dengan *early* EPCs (Tabel 1). Lebih jauh lagi, EOCs tidak lagi mengekspresikan molekul penanda sel hematopoietik (CD45 dan CD14). Hal ini menunjukkan bahwa dibandingkan terhadap *early* EPCs, EOCs lebih mendekati sel endotel matang. Hal yang membedakan EOCs dari sel endotel matang adalah didapatkannya aktivitas

telomerase yang tinggi yang tidak didapatkan pada sel endotel matang.¹⁹

EPCs yang bersirkulasi dalam peredaran darah, seringkali disebut sebagai *Circulating Endothelial Progenitor Cells* (CEPs).^{9,11,13} CEPs dapat berasal dari hasil mobilisasi EPCs dari sumsum tulang⁷ atau dari daerah-daerah tertentu tempat EPC berada, seperti organ jantung, otot, saluran pencernaan, dan peredaran darah.²⁰ CEPs selanjutnya dapat bersirkulasi dalam peredaran darah dan dapat bermigrasi ke daerah yang mengalami iskemi (kekurangan oksigen) dan daerah dengan pertumbuhan tumor akibat stimulasi mediator pertumbuhan yang turut berperan dalam terjadinya pembentukan pembuluh darah baru.²¹⁻²³

Peningkatan jumlah *Circulating EPCs* (CEPs) dapat dideteksi segera setelah terjadinya luka.²⁴ Dilaporkan bahwa dalam waktu 6 jam setelah terjadi luka, peningkatan CEPs dapat segera terdeteksi dalam peredaran darah. Selama berada dalam peredaran darah, CEPs sudah mulai mengalami diferensiasi sehingga saat berada pada tempat terjadinya luka, CEPs telah siap berperan dalam penyembuhan luka. Proses diferensiasi EPC diduga diawali dengan migrasi EPC dari sumsum tulang ke dalam sirkulasi darah yang kemudian melekat atau menyusup ke dalam lingkungan tempat sel endotel matang berada.²⁵ Namun, sampai saat ini belum ada definisi yang jelas mengenai kapan diferensiasi EPC (yang berasal dari sumsum tulang) menjadi sel endotel matang. Sel endotel matang tidak mengekspresikan molekul CD133 atau CD34²⁶, sehingga salah satu penanda adalah hilangnya ekspresi molekul CD133 atau CD34 dan ekspresi paralel lanjutan untuk molekul penanda spesifik sel endotel seperti vWF.

Tabel 1. Perbandingan *Early EPCs* dan *EOCs*^{4,6,13}

Karakteristik	<i>Early EPCs</i>	<i>EOCs</i>
Waktu ditemukannya dalam kultur	4-7 hari	10-20 hari
Morfologi sel	 <p><i>Spindle</i></p>	 <p><i>Cobblestone</i></p>
Kecepatan proliferasi setelah waktu optimal tercapai	Rendah	Tinggi
Jumlah mediator yang disekresi (VEGF dan IL-8)	Tinggi	Rendah
Molekul penanda	CD34, CD14, CD11b, CD11c, CD45, KDR, VE-cadherin, CD31, Tie-2, vWF	KDR, VE-cadherin, CD31, Tie-2, vWF, eNOS
Pembentukan struktur vaskular dalam matriks dimensi	<p>Tidak terbentuk</p> 	<p>Terbentuk</p> 

VEGF : *Vascular endothelial growth factor*, IL-8 : *Interleukin-8*;
 CD : *Cluster of differentiation*,
 KDR : *Kinase Domain Receptor*,
 Tie-2 : *protein reseptor tirosin kinase*, spesifik epitel,
 vWF : *Von Willebrand factor*,
 eNOS : *endothelial nitric oxide sintase*.

Implikasi Berbagai Definisi Populasi EPC

A. Peran EPC dalam Terapi Berbagai Penyakit Vaskular

Perbedaan karakteristik *Early EPCs* dan *EOCs* dalam menghasilkan mediator dan pembentukan struktur vaskular pada studi *in vitro* dan *in vivo* diduga dapat memberi kontribusi sinergis dalam terapi penyakit vaskular. Beberapa penelitian telah melaporkan potensi dari *EPCs* dan *EOCs* dalam terapi penyakit gangguan vaskular seperti terdapat pada jaringan yang mengalami iskemia, pada proses penyembuhan luka, infark miokard, arterosklerosis, diabetes melitus, dan penyakit akibat disfungsi vaskular lainnya.²⁴ Melalui uji *in vitro*, *Early EPC* diketahui dapat meningkatkan proliferasi, migrasi, dan pembentukan struktur vaskular dalam sistem parakrin, yaitu menghasilkan mediator yang menginduksi sel-sel endotel di sekitarnya untuk terjadinya pembentukan pembuluh darah baru.⁴ Sedangkan *EOCs* lebih bertindak sebagai sel yang berinkorporasi dengan sel endotel matang lain untuk membentuk pembuluh darah.^{4,13} Sinergisme *EPC* dan *EOC* ditunjukkan dalam studi *in vivo* dengan mentransplantasikan 2 populasi *EPC* tersebut pada tikus yang menderita iskemia tungkai. Dengan ditransplantasikan secara bersamaan, *EPCs* dan *EOCs* meningkatkan pembentukan pembuluh darah baru dibandingkan dengan bila ditransplantasikan secara terpisah.¹⁷ Oleh karena itu, diduga penggunaan 2 populasi *EPC* ini dibutuhkan secara bersama-sama sebagai terapi sel berbagai penyakit gangguan vaskular.

B. EPC Sebagai Indikator Terdapatnya Risiko Penyakit Gangguan Vaskular

Jumlah dan aktivitas fungsional *Circulating EPCs* (*CEPs*) dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor. Faktor-faktor tersebut antara lain sebagai berikut.

1. Faktor fisiologis

Beberapa faktor fisiologis dapat mempengaruhi jumlah *CEPs*. Contohnya olahraga teratur²⁷ diketahui meningkatkan jumlah *CEPs*. Sebaliknya semakin bertambahnya usia (penuaan) dapat menurunkan jumlah *CEPs*.²⁸

2. Faktor patologis

Penderita infark miokard akut terkait dengan mobilisasi dan peningkatan jumlah *CEPs*.²⁹ Fenomena yang sama terjadi pada trauma vaskular seperti luka bakar atau operasi *bypass* arteri koroner menginduksi mobilisasi *EPC* sehingga meningkatkan jumlah *CEPs* yang bersifat sementara.³⁰ Sebaliknya faktor-faktor risiko penyakit kardiovaskular seperti risiko terjadinya penyakit jantung koroner³¹, diabetes melitus³², hiperkolesterolemia³³, diketahui berkorelasi terbalik dengan jumlah dan fungsional *EPCs*.¹⁸ Pada penderita infark miokard, jumlah *CEPs* meningkat pada saat fase awal (7 hari setelah munculnya infark), namun selanjutnya mengalami penurunan pada fase yang lebih lanjut.²⁹ Beberapa studi menunjukkan bahwa jumlah *CEPs* dapat dikombinasikan dengan skor dari faktor risiko Framingham untuk menjadi prediktor reaktivitas pembuluh darah pada pasien penderita penyakit kardiovaskular.⁹

3. Obat-obatan
Beberapa jenis obat diketahui dapat memobilisasi EPCs dari sumsum tulang ke dalam sirkulasi darah sehingga meningkatkan jumlah EPCs dalam peredaran darah.³⁴ Obat-obatan tersebut antara lain statin dan puerarin (ekstrak tanaman tradisional dari Cina yang banyak digunakan untuk mengobati penyakit jantung koroner). Dalam beberapa studi, ditunjukkan bahwa kedua senyawa di atas dapat meningkatkan jumlah, proliferasi, migrasi, dan pembentukan pembuluh darah baru secara *in vitro* yang diperantarai oleh EPCs.³⁵
 4. Mediator pertumbuhan, hormon, dan bahan kimia lainnya
Jumlah CEPs juga dipengaruhi oleh mediator pertumbuhan tertentu, antara lain VEGF², *stromal derived factor-1* (SDF-1)³⁶, hormon eritropoietin³⁷, *fibroblast growth factor* (FGF)³⁸, dan *granulocyte colony stimulating factor* (G-CSF).³⁹ Pemberian G-CSF pada manusia dapat meningkatkan jumlah sel yang mengekspresikan molekul penanda CD133 dan VEGFR-2 (molekul penanda untuk EPC yang juga merupakan reseptor dari VEGF) dalam sirkulasi darah 5 sampai 10 kali lipat.³⁹ Faktor lainnya yang juga mempengaruhi aktivitas dan fungsi EPC adalah nikotin, salah satu komponen yang banyak ditemukan pada tembakau. EPC yang diisolasi dari perokok berat mengalami gangguan dalam fungsinya yaitu kehilangan kemampuannya untuk membentuk koloni EPC dalam kultur dan mengalami kematian dalam waktu lebih cepat (4-5 hari).⁴⁰
- Berbagai faktor-faktor yang mempengaruhi jumlah EPC dirangkum dalam Tabel 2.

Tabel 2. Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Jumlah dan Fungsional EPC

Faktor yang Berpengaruh	Efek terhadap Jumlah EPC
Fisiologis	
Olahraga teratur	↑
Penuaan	↓
Patologi	
Infark miokard akut, trauma vaskular, Gagal jantung (fase awal)	↑
Gagal jantung (fase lanjut), diabetes melitus, hiperkolesterolemia	↓
Obat-obatan	
Statin, puerarin	↑
Mediator pertumbuhan, hormon, dan bahan kimia lainnya	
VEGF ² , SDF-1, eritropoietin, bFGF, G-CSF	↑
Nikotin	↓

VEGF : *Vascular endothelial growth factor*, SDF-1 : *Stromal Derived Factor-1*, b-FGF : *basic fibroblast growth factor*, G-CSF : *Granulocyte-colony stimulating factor*.

Penghitungan jumlah dan penentuan fungsional EPC mulai menjadi perhatian dunia medis sebagai salah satu parameter yang dapat digunakan dalam menentukan risiko adanya berbagai kondisi patologis, terutama yang berkaitan dengan penyakit gangguan vaskular.

Besarnya potensi EPCs, sebagai agen terapi sel untuk mengobati berbagai penyakit akibat gangguan vaskular dan parameter dalam penentuan risiko terdapatnya kondisi patologis penyakit, membuat EPCs menjadi suatu populasi sel yang sangat penting. Definisi dan karakteristik populasi EPCs secara mendetail, mutlak dibutuhkan dan perlu untuk terus diteliti agar potensi manfaat EPC lainnya dapat digunakan dalam aplikasi klinis dunia kedokteran.

Daftar Pustaka

1. Asahara T, Murohara T, Sullivan A, dkk. Isolation of Putative Progenitor Endothelial Cells for Angiogenesis. *Science*. 1997; 275:964-7.
2. Ingram DA, Mead LE, Tanaka H, dkk. Identification of a novel hierarchy of endothelial progenitor cells utilizing human peripheral and umbilical cord blood. *Blood*. 2004;104:1396.
3. Kalka C, Masuda H, Takahashi T, dkk. Transplantation of ex vivo expanded endothelial progenitor cells for therapeutic neovascularization. *PNAS*. 2000;97:3422-7.
4. Fuchs S, Hermanns MI, Kirkpatrick CJ. Retention of a differentiated endothelial phenotype by outgrowth endothelial cells isolated from human peripheral blood and expanded in long-term cultures. *Cell Tissue Res*. 2006; 326:79-92.
5. Hur J, Yoon CH, Kim HS, dkk. Characterization of two types of endothelial progenitor cells and their different contributions to neovascularization. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2004; 24:288-93.
6. Yoder MC, Mead LE, Prater D, dkk. Redefining endothelial progenitor cells via clonal analysis and hematopoietic stem/progenitor cells principals. *Blood*. 2007; 109:1801-9.
7. Lin Y, Weisdorf DJ, Solovey A, Hebbel RP. Origin of circulating endothelial cells and endothelial outgrowth from blood. *J Clin Invest*. 2000; 105:71-7.
8. Gulati R, Jevremovic D, Peterson TE, dkk. Diverse origin and function of cells with endothelial phenotype obtained from adult human blood. *Circ Res*. 2006; 93:1023-5.
9. Hill J, Zalos G, Halcox JPJ, dkk. Circulating Endothelial Progenitor Cells, Vascular Function, and Cardiovascular Risk. *N Engl J Med*. 2003; 348:593-600.
10. Murohara T, Ikeda H, Duan J, dkk. Transplanted cord blood-derived endothelial precursor cells augment postnatal neovascularization. *J Clin Invest*. 2000; 105:1527-36.
11. Timmermans F, Hauwermeiren FV, Smedt MD, dkk. Endothelial Outgrowth Cells Are Not Derived From CD133+ Cells or CD45+ Hematopoietic Precursors. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol*. 2007; 27:1011-16.
12. Neumüller J, Neumüller SE, Lipovac GM. Immunological and ultrastructural characterization of endothelial cell cultures differentiated from human cord blood derived endothelial progenitor cells. *Histochem Cell Biol*. 2006; 126:649-664.
13. Smadja DM, Cornet A, Emmerich J, Aiach M, Gaussem P. Endothelial progenitor cells: Characterization, in vitro expansion, and prospects for autologous cell therapy. *Cell Biol Toxicol*. 2007; 23: 223-39.
14. Zisch AH. Current opinion in Biotechnology; Tissue engineering of angiogenesis with autologous endothelial progenitor cells. 2004; 15:424-429.
15. Rehman J, Li J, Orschell CM, March KL. Peripheral Blood "Endothelial

- Progenitor Cells" Are Derived From Monocyte/Macrophages and Secrete Angiogenic Growth Factors. *BioEssays*. 2006; 28;261-270.
16. He T, Smith LA, Harrington S, dkk. Transplantation of circulating endothelial progenitor cells restores endothelial function of denuded rabbit carotid arteries. *Stroke*. 2004; 35;2378-2384.
17. Yoon CH, Hur J, Park KW, dkk. Synergistic Neovascularization by Mixed Transplantation of early Endothelial Progenitor Cells and Late Outgrowth Endothelial Cells: The Role of Angiogenic Cytokines and Matrix Metalloproteinases. *Circulation*. 2005; 112;1618-27.
18. Hristov M, Weber C. Endothelial progenitor cells: characterization, pathophysiology and possible clinical relevance. *J Cell Mol Med*. 2004; 8;498-508.
19. Ingram DA, Mead LE, Tanaka H, dkk. Identification of a novel hierarchy of endothelial progenitor cells utilizing human peripheral and umbilical cord blood. *Blood*. 2004-04-1396.
20. Doyle B, Metharom P, Caplice NM. Endothelial Progenitor Cells. *Endothelium*. 2006; 13;403-10.
21. Hristov M, Erl W, Weber PC. Endothelial Progenitor Cells: Mobilization, Differentiation, and Homing. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; 23;1185-1189.
22. Urbich C, Dimmeler S. Endothelial Progenitor cells. Characterization and role in vascular biology. *Circ Res*. 2004; 95;343-53.
23. Khakoo AY, Finkel T. Endothelial Progenitor Cells. *Annu Rev Med*. 2005; 56;79-101.
24. Rafii S, Lyden D. Therapeutic stem and progenitor cell transplantation for organ vascularization and regeneration. *Nature Medicine*. 2003; 9;702-712.
25. Hristov M, Erl W, Weber PC. Endothelial Progenitor Cells Isolation and Characterization. *TCM*. 2003; 13;201-206.
26. Schmeisser A, Garlichs CD, Zhang H, dkk. Monocytes coexpress endothelial and macrophagocytic lineage markers and form cord-like structures in Matrigel under angiogenic conditions, *Cardiovasc Res*. 2001; 49;671-680.
27. Laufs U, Werner N, Link A, dkk. Physical training increases endothelial progenitor cells, inhibits neointima formation, and enhances angiogenesis. *Circulation*. 2004; 109;220-226.
28. Scheubel RJ, Zorn H, Silber RE, dkk. Age dependent depression in circulating endothelial progenitor cells in patients undergoing coronary artery bypass grafting. *J Am Coll Cardiol*. 2003; 42;2073-2080.
29. Shintani S, Murohara T, Ikeda H, dkk. Mobilization of endothelial progenitor cells in patients with acute myocardial infarction. *Circulation*. 2001; 103;2776-2779.
30. Gill M, Dias S, Hattori K. Vascular trauma induces rapid but transient mobilization of VEGFR2(p)AC133(p) endothelial precursor cells. *Circ Res*. 2001; 88;167-174.
31. Valgimigli M, Rigolin GM, Fucili A, dkk. CD34⁺ and endothelial progenitor cells in patients with various degrees of congestive heart failure. *Circulation*. 2004; 110;1209-1212.
32. Tepper OM, Galiano RD, Capla JM, dkk. Human endothelial progenitor cells from type II diabetics exhibit impaired proliferation, adhesion, and incorporation into vascular structures. *Circulation*. 2002; 106;2781-2786.
33. Chen JZ, Zhang FR, Tao QM, Wang XX, Zhu JH. Number and activity of endothelial progenitor cells from peripheral blood in patients with hypercholesterolaemia. *Clin Sci (Lond)*. 2004; 107;273-280.
34. Vasa M, Fichtlscherer S, Adler K, dkk. Increase in circulating endothelial progenitor cells by statin therapy in patients with stable coronary artery disease. *Circulation*. 2001; 103;2885-2890.
35. Zhu JH, Wang XX, Chen JZ, dkk. Effects of puerarin on number and activity of endothelial progenitor cells from peripheral blood. *Acta Pharmacol Sin*. 2004; 25;1045-1051.

36. De Falco E, Porcelli D, Torella AR, dkk et al. SDF-1 involvement in endothelial phenotype and ischemia-induced recruitment of bone marrow progenitor cells. *Blood*. 2004; 104;3472-3482.
37. Bahlmann FH, DeGroot K, Duckert T, dkk. Endothelial progenitor cell proliferation and differentiation is regulated by erythropoietin. *Kidney Int*. 2003; 64;1648-1652.
38. Conklin BS, Wu H, Lin PH, Lumsden AB, Chen C. Basic fibroblast growth factor coating and endothelial cell seeding of a decellularized heparin-coated vascular graft. *Artif Organs*. 2004; 28;668-675.
39. Peichev M, Naiyer AJ, Pereira D, dkk. Expression of VEGFR-2 and AC133 by circulating human CD341 cells identifies a population of functional endothelial precursors. *Blood*. 2000; 95;952-8.
40. Wang X, Zhu J, Chen J, Shang Y. Effects of nicotine on the number and activity of circulating endothelial progenitor cells. *J Clin Pharmacol*. 2004; 44;881-889.

